تأثير المستخلصات المائية لبعض النباتات في مقاومة الفطر *Alternaria alternata*

أنفال مؤيد جلال الدين **نجلاء طارق التكريتي** **نضال ذنون يونس**

قسم علوم الحياة *أعدادية قرطبة*

كلية العلوم *تربية نينوى*

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/2/8 , تاريخ القبول 2006/5/8)

الملخص

درس تأثير المستخلصات المائية لكل من أوراق نبات الآس والزيتون والبرتقال ولقشور الرمان الطرية والجافة على نمو الفطر *Alternaria alternata* المسبب لمرض تبقع أوراق الباقلاء أذ سبب المستخلص المائي للاوراق الطرية لنباتات الآس والبرتقال والزيتون وقشور الرمان بالتراكيز الثلاثة 10 و 20 و 40 ملغم / مل تثبيطآ في نمو الفطر وصل الى 93.33 % عند التركيزين الثاني والثالث 20 و 40 ملغم/مل عند أستخدام مستخلص اوراق البرتقال الطرية ولايوجد فرق معنوي بينهما, بينما كانت هناك فروق معنوية بينها وبين التركيز10 ملغم / مل حيث بلغت نسبة التثبيط 87.77 % و اعطى مستخلص الاوراق الجافة للزيتون عند تركيز 40 ملغم / مل اعلى نسبة تثبيط وصلت الى73.33% وكانت هناك فروق معنوية بينها وبين بقية المعاملات. ولم يكن لمستخلص الاوراق الجافة للآس أي تأثيرمثبط عند التراكيز الثلاثة المستخدمة.

The Effect of Aqueous Extract of some Plants on *Alternaria alternata*

Anfal M. Jalal **Najlaa T. Tkrity** **Nidal T. Younis**

Department of Biolology *Kurtuba Scondary School*

College of Science *Nenava Education*

Mosul University

ABSTRACT

The inhibitory effect of aqueous extracts of fresh and dry leaves of myrthle; olive; orange. and fresh and dry fruits of pomegranate. on the growth of *Alternaria alternata* isolated from broad been leaves, were studied. Results showed that two aqueous extracts of fresh leaves of orange was highly active at concentrations 20, 40 mg/ml (93.33%) and at 10 mg/ml (87.77%). The other extracts, showed partial inhibition of growth of the test

fungus. The aqueas extract of dry olive leaves inhibited the growth of *A. alternaia* (73.33%) at concentration 40 mg/ml. The aqueous extract of myrtle dry leaves gave no significant inhibition on the growth of the fungus.

المقدمة

يرجع تدهور انتاج الباقلاء في العراق الى عوامل عدة منها امراض النبات ، اذ سـجلت اصـابات مرضية عديدة منها تبقع الاوراق الذي يسببه *A. alternata* والذي شخص في العراق ودول متعددة مـن العالم كمسبب مرضي لها (مـصطفى، 1974 ; Kwon and Park, 2000 ; Akem and Bellar, 1999). ويتميز الفطر*A. alternata* بقدرته على أنتاج انواع مختلفة من السموم التي تساعد فـي غـزو النـسيج النباتي واحداث الاصابة. كما سجل تأثير هذه السموم للاحياء الاخرى ومن ضـمنها اللبـائن اذ يـسبب وجودها تسمماً لبعض انسجة وخلايا الجرذان والكـلاب(Shier et al., 1991; Mirocha et al., 1992). اضافة الى ان الفطر المذكور ثبت ان سمومه مسرطنه لخلايا الانـسان (Liu et al., 1992). وتتبـاين السموم الفطرية المنتجة من قبل *A. alternata* بتأثيرها على المكونات التركيبية للخلية النباتيـة المتمثلـة بالغشاء البلازمـي والبلاسـتيدات الخـضراء والمايتوكونـدريا (Otani and Kohmoto, 1992). ولان الفطريات كائنات حية حقيقية النواة غالبا مجهرية و بعضها ممرض للانسان والحيوان والنبـات وملـوث لبيئة الانسان والاغذية فتنعكس اضرارها على المجتمع (Foster, 2000) لذلك اتجهـت الانظـار الـى استخدام النباتات الطبية ومستخلصاتها بوصفها مضادات للفطريات المرضية و ذلك لخلو هذه النباتات و المستخلصات من الاضرارالجانبية عند استخدامها بـالجرع المحـددة (Morsy et al., 1998). وتـشير الدراسات العلمية المختلفة إلى إستخدام الأعشاب علاجآ للأمراض الشائعة (محمد، 1999).و أحـد هـذه النباتات الآس *Myrtus communis* الذي يعود إلى العائلة Myrtaceae أذ ان المكونات الكيمياوية لأوراق الآس (Chakravarty, 1976) تشمل الزيوت الأساسية (Esseutial Oils) و التي تـشكل 0.3 – 0.4 % من وزن الأوراق و ذات لون أصـفر حاويـة علـى الكحـولات التربينيـة Terpenic alchols كمركبات أساسية (1.8-cincol α-terbenol) كما ثبت خلال الكشف الكيمياوي أن أوراقه وزهوره تحتوي على مواد مثل الكلايكوسيدات والعفصيات والراتنجات والصابونيات وكذلك الفينولات التي يعود إليهـا التأثير المثبط لنمو الجراثيم (Al-Asady, 1988؛والزهيري، 1982). اما الرمان فيحتوي علـى 10% مواد سكرية و58% ماء و3% مواد بروتينية و2.91% الياف كما يحتوي علـى فيتـامين A او B و C ومقادير قليلة من الحديد والفسفور والكبريت والكالسيوم والبوتاسيوم وترتفع نسبة المواد الدهنية في بذوره من 7-9%. اما البرتقال فوجد انه يحتوي على مواد مضادة للاكسدة مما يساعد في الوقاية من المـسببات الفايروسية (الجبوري و العكيدي, 1997). اما ثمار الزيتون فيشكل الزيت فيها نسبة حوالي 70 % مـن تركيبها ويتالف من كليسيريدات وحوامض اهمها الاوليك مع كميات صـغيرة مـن حـامض البلمتيـك واللينوليك والستراريك والستريك كما يحتوي كل 100غم من الزيتون على بروتينات 0.9 غـم وعناصـر

معدنية هامة منها البوتاسيوم والمغنيسيوم والفسفور والحديد والنحاس والكبريت (Bianchi et al.,1993). و كان الاعتقاد السابق بأن القيمة الصحية لزيت الزيتون أنما تعود لوجود الأحماض الشحمية غير المشبعة والتي تمثل أغلب مركبات الزيت(الحمداني, 2002) غير انه اكتشف فيما بعد وجود مواد أخرى تسمى الفينولات Phenols وهي التي تشارك الأحماض الشحمية غير المشبعة بالقيمة الصحية لزيت الزيتون وأهم هذه الفينولات تأثيراً مادة أطلق عليها أسم Oleuropein وأعتبرت هذه المادة هي المركب الفعال في الزيوت وأن طعم الزيتون المر يعود إلى وجود هذه المادة في تركيبة (Gonzalez et al., 1992). وتشكل الأوراق المصدر الأغنى بـ Oleuropein بين بقية الأجزاء إذ يحتوي الكيلوغرام الواحد من الأوراق ما مقداره غرامين من هذه المادة(Cheij, 1984). و نظرا لوفرة النباتات اعلاه و سهولة الحصول على نماذج منها فقد هدفت الدراسة الى استخدام هذة النباتات و مستخلصاتها لمكافحة هذا الفطر الذي يهدد محصولآ غذائيا مهما في البلد.

مواد وطرائق البحث

1- جمع النباتات المختارة :

جمعت النباتات من الحدائق المنزلية والسوق المحلية وتشمل أوراق البرتقال والزيتون والآس وقشورالرمان, تم تنظيف النماذج من الأتربة والأوساخ وقسمت إلى مجموعتين الأولى استخدمت مباشرةً طرية والثانية جففت في فرن كهربائي في درجة 70°م لمدة 48 ساعة.

2- تحضير المستخلصات النباتية المائية وتعقيمها :

حضرت المستخلصات المائية للنباتات المستخدمة بالإعتماد على طريقة (Riose et al.,1987) أذ أضيف 40 غم من النموذج النباتي الى 160مل من الماء المقطر(4:1 وزن:حجم) وسحق النموذج بإستخدام جهازالسحق Blender بوجود الثلج وحرك بعدها المزيج بواسطة المحرك الكهربائي مدة 60 دقيقة لتفجير جدران الخلايا النباتية ثم ترك في درجة 4°م لمدة 24 ساعة لغرض النقع ورشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش. أستخدمت هذه الطريقة لتحضير المستخلصات النباتية من النماذج المجففة والطرية (الرطبة) لكل من النباتات المختارة المذكورة في الفقرة (1) أذ تم تركيز المستخلصات بإستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator في درجة حرارة 60°م. جففت المستخلصات الناتجة فيما بعد بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد (Lyophilizer) المجهز من شركة Edwards الأنكليزية ثم حفظت العينات في قناني زجاجية ذات غطاء محكم.بهذه الطريقة تم الحصول على مسحوق المستخلص الذي حفظ مجمآ عند(–5)°م لحين الإستخدام. وعقمت المستخلصات بإستخدام المرشحات الغشائية (Membrane Filter 0.22m) لمنع مرور الجراثيم من خلاله وأعتبر هذا المركز القياسي مصدراً لتحضير التخافيف اللاحقة المستخدمة في البحث.

3- عزل الفطر من النبات :

جمعت عدة عينات من أوراق الباقلاء والتي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالفطريات ثم زرعـت العينات في أطباق بتري معقمة تحتـوي علـى الوسـط الغـذائي المكـون مـن مـستخلص البطاطـا والدكستروزوالآكارPotato Dextrose Agar(PDA) وحضنت في درجة 25°م وبعد نمـو المـستعمرات الفطرية نقيت وشخصت بإستخدام المفاتيح التصنيفية(Ellis, 1971) .تم الحصول على عزلـة ممرضـة للفطر ولقحت نباتات سليمة فيها للتأكد من أمراضيتها.

4- تحضير التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية :

أخذ واحد غرام من كل من المستخلصات النباتية المحضرة في الفقرة 2 و أذيب في 10 مل من الماء المقطر المعقم وبذلك ويكون لدينا مستخلص تركيزه 100 ملغم / مل كتركيز قياسي وحضرت منـه تراكيز لكل من المستحضرات الجافة والرطبة وهذه التراكيز هي 10، 20، 40 ملغـم / مـل. أضـيف المستخلص المائي للنباتات إلى وسط PDA قبل التوزيع على الاطباق للحصول على التراكيز السابقة.

بعد تصلب الوسط نقلت أقراص بقطر 0.4 سم من مستعمرة الفطر إلى ألاطباق الحاوية على وسط PDA المضاف إليه المستخلصات المائية وحضنت الأطباق عند درجة 25°م لحين ملئ الفطـر أطبـاق المقارنة الذي إستخدم فيها الوسط PDA بدون إضافة المستخلص .بعد ذلك تم قياس اقطار المـستعمرات (الجليلي، 1999).

5- تصميم التجارب وتحليل النتائج :

تم اجراء التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) لتجربة عامليـة. واختبرت معنوية المتوسطات باستخدام طريقة دنكن المتعددة المدى (الراوي، 1984) حيث حللت احصائيا باستخدام برنامج SAS الجاهز للتحليل الاحصائي.

النتائج والمناقشة

1- التشخيص :

يظهرالشكل (1) وريقات الباقلاء الملقحة بالفطر المعزول *Alternaria alternata* والذي اعطـى بقعآ ذات حلقات مركزية بالعزلة المشخصة وهي الاعراض المميـزة لاصـابة البـاقلاء بهـذا الفطـر الممرض(البرزنجي, 2006).

2-تأثير المستخلصات النباتية:

أ- المستخلصات الطرية:

يظهر من الجدول (1) أن المستخلص المائي للمواد الطريـة لنباتـات الآس والبرتقـال والرمـان والزيتون وبالتراكيز الثلاثة 10و20 و40 ملغم/مل اعطت نتائج متباينة أذ سبب مستخلص اوراق البرتقال تثبيطاً لنمو الفطر وصل الى93.33 % عند التركيزيين الثاني والثالث, بينما كانت الفروق معنوية بين كـل من هذين التركزين و بين التركيز10ملغم/ مل أذ بلغت نسبة التثبيط للتركيز 10 ملغـم /مـل 87.77 % .اعطى مستخلص قشور الرمان واوراق الزيتون عند التركيز 40 ملغم/مل اعلى نـسبة تثبـيط لهمـا أذ وصلت الى71.11 % وكانت هناك فروق معنوية بينها وبين بقية التراكيز لهذيين النباتين . لقد ظهـر ان مستخلص الاوراق الطرية للآس لم يكن لها تأثير مثبط بشكل كبير مقارنةً مع بقية المستخلصات أذ اعطى نسبة تثبيط وصلت الى 4.44، 11.11، 33.33 % عند التراكيز10و20و40 ملغم/مل على التوالي.

ب – المستخلصات الجافة:

الجدول (2) يبين تاثير مستخلصات المواد النباتية الجافة. وقد اعطى مـستخلص الزيتـون عنـد التركيز 40 ملغم / مل اعلى نسبة تثبيط وصلت الى73.33% وكان هناك فروق معنوية بينها وبين بقيـة المعاملات جميعاً التي تليه في التأثير، ولم يكن لمستخلص الآوراق الجافة للآس أي تـأثير مثـبط عنـد التراكيز الثلاثة المستخدمة وقد ظهرت فروقات معنوية قليلة عند استخدام المستخلصات المائيـة الجافـة لقشور الرمان واوراق البرتقال. يظهر من الجدولين (1) و (2) أن المستخلص المائي لآوراق البرتقـال قبل التجفيف لها تأثير تثبيطي على نمو الفطر *A.alternata* بلغت 93.33% مقارنة مع المستخلص المائي للاوراق بعد التجفيف أذ بلغت 54.44 % عند التركيز 40 ملغم/ مل . قد يعود السبب في ذلك الى احتواء هذه المستخلصات على مواد مثبطة لنمو الفطر قد فقدت اثناء التجفيف(الجبوري و العكيدي, 1997). بينما كان مستخلص الاوراق الجافة للزيتون افضل واعطى نسبة تثبيط بلغت 73.33 % مقارنة مع مـستخلص الاوراق الطرية التي بلغت 71.11%عند التركيز 40 ملغم / مل والفرق بينهما ليس كبيراً. يعود الـسبب الى احتواء اوراق الزيتون على نسبة عالية من المواد الفينولية المثبطـة للفطريـات زادت كميتهـا مـع التجفيف وادى ذلك الى زيادة نسبة التثبيط (Gonzalez et al., 1992). ربما يعود السبب في ذلك الـى ان الفطر*A. alternate* في هذة الدراسة غير حساسة لتأثير المواد الداخلة في المستخلصات المائيـة لاوراق الاس الطرية عند التركيز40% والذي ادى الى حدوث تثبيط وصل الى33.3%, وان التجفيف ربمـا ادى الى تلف المواد مما سبب في انعدام التثبيط 0.0% في المستخلصات الجافة (الدليمي, 1990).

الجدول 1: تأثير المستخلصات المائيةللمواد النباتية الطرية على فطر *A. alternata* .

المادة النباتية	التراكيز (ملغم/مل)					
	10		20		40	
	القطر(سم)	% للتثبيط	القطر(سم)	% للتثبيط	القطر(سم)	% للتثبيط
أوراق الآس	8.6	4.44 i	8.0	11.11 h	6.0	33.33 g
أوراق البرتقال	1.1	87.77 b	0.6	93.33 a	0.6	93.33 a
قشور الرمان	5.6	37.77 f	3.1	65.55 d	2.6	71.11 c
أوراق الزيتون	3.6	60.0 e	2.6	71.11 c	2.6	71.11 c

* قطر مستعمرة الفطر في طبق المقارنة 9.0 سم.*كل معاملة تمثل متوسط ثلاث مكررات.

*المتوسطات في الاعمدة افقيا وعموديا التي تأخذ الاحرف نفسها لاتوجد بينها اختلافات معنويـة حـسب اختبار دنكن المتعدد المدى تحت مستوى احتمال 5%.

الجدول 2 : تأثير المستخلصات المائية للمواد النباتية الجافة على فطر *A. alternata* .

المادة النباتية	التراكيز (ملغم /مل)					
	10		20		40	
	القطر(سم)	% للتثبيط	القطر(سم)	% للتثبيط	القطر(سم)	% للتثبيط
أوراق الآس	9.0	0.0 i	9.0	0.0 i	9.0	0.0 I
أوراق البرتقال	4.8	46.66 h	4.5	50.00 g	4.1	54.44 f
قشورالرمان	3.8	57.77 e	3.3	63.33 d	3.1	65.55 c
أوراق الزيتون	4.2	53.33 f	3.3	67.77 b	1.2	86.66 a

* قطرمستعمرة الفطر في طبق المقارنة 9.0 سم.* كل معاملة تمثل متوسط ثلاث مكررات.

* المتوسطات في الاعمدة افقيا وعموديا التي تأخذ الاحرف نفسها لاتوجد بينها اختلافات معنوية حـسب اختبار دنكن المتعدد المدى تحت مستوى احتمال 5%.

الشكل 1 : ظهور البقع على وريقة الباقلاء الملقحة بالفطر *Alternaria alternata* .

المصادر العربية

البرزنجي وخالد محمود، 2006. دراسة تاثير الاصابة المشتركة بالفايروس BYMV والفطر *A.alternata* على الباقلاء . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل. العراق.

الجليلي، أنفال مؤيد جلال الدين، 1999 . تأثير فطر الفيوزاريوم ونيماتودا الحمضيات في نمو شتلات النارنج. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل. العراق.

الجبوري، صبحي حسين ومحسن ايوب العكيدي، 1997. أستعمال أوراق البرتقال كوسط اساس في تحضير الاوساط الزرعية لانواع مختلفة من الجراثيم، مجلة علوم الرافدين، 8(2): ص1-6.

الحمداني, خالد حساني جرجيس، 2002. تاثيرورق الزيتون وبذور الحلبة في بعض الصفات الفسلجية والانتاجية في الارانب. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

الديليمي, نافع حمادي عبد الله، 1990. دراسة كيمياوية وبايولوجية لثمرة السماق العراقي *Rhus coriaria* . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة صلاح الدين، العراق.

الرواي، خاشع محمود، 1984. المدخل الى الاحصاء. مطابع دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، الموصل، العراق. 469 صفحة.

الزهيري، أحمد محمود حسين، 1982. دراسة بعض الصفات الكيمياوية والدوائية لنبات الآس. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، العراق.

مصطفى، فاضل حسين، 1974. قائمة بالامراض النباتية الشائعة في العراق، وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي، دار الحرية للطباعة – بغداد، العراق. 25 صفحة.

ألمصادر ألأجنبية

Akem, C. and Bellar, M., 1999. Survey of faba bean (*Vicia faba*) diseases in the main faba bean-growing regions of Syria. Arab J. of Plant Protection. 17: pp.113-116.

Al-Asady, J.G., 1988. Studies on the Biochemical Effects of Some Compounds of *Myrtus Communis* L. (Mytaceae). M. Sc thesis, University of Mosul, Iraq. (Arabic).

Bianchi, G., Valahov, G. and Anglani, C., 1993. Epicuticular wax of olive leaves. Phytochemistry (Oxford)32,49 p.

Charkravarty, H.L., 1976. Plant Wealth of Iraq, A Dictionary of Economic Plants, 1. Botany Directorate, Ministry of Agriculture and agrarian Reform, Baghdad. Iraq.

Cheij, R., 1984. Mcdonald Encyclopedia of Medical Plant .McDonald and Co., Publishers, Ltd, London, 209,309,313 p.

Chiej, R., 1980. The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants. Amacdonald Box, London, England :18: pp.132-254.

Ellis, M., 1971. Dematacious Hyphomycetes. CommonWealth Mycologycal Institute, Kew. Surry. England. 605 p.

Foster, R.W., 2000. Basic Pharmacology, 4thed., Butlerworth Hememann, Reed Educational and Professional Publishing, London, England. pp.299-302.

Gharsallah, N., 1993. Production of single cell protein from olive mill waste water by yeasts . Environmental Technology.(Geneva), 14: pp.391- 395.

Gonzalez, M., Zarznelo, A., Games, M.J., Utrilla, M.P., Jimenez, J. and Osuna, I., 1992. Hypoglyceamic activity of olive leaf. Planta Med.58: pp.313-315.

Kwon, J.H. and Park, C.S., 2002. Leaf spot of broad bean (*Vicia faba*) caused by *Alternaria tenuissima*. Res. Plant Disease. 8: pp.117-119.

Liu, G.T., Qian, Y.Z., Zhang, P., Dong, W.H., Qi, Y.M. and Guo, H.T., 1992. Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer. Chin. Med. L. 105: pp.394-400.

Mirocha, C.J., Gilchrist, D.G., Shier, W.T., Abbas, H.K., Wen, Y. and Vesonder, R.F., 1992. AAL-toxins, fumouisins (biology and chemistry and host-specificity concept) Mycopathologica. 117: pp.47-56.

Morsy, T.A., Shoukry, A., Mazyad, S.A. and Makled, K.M., 1998. The effect of the volatile oils of *Chenopodium amberosioides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucilia serucala* (Meigen), J. Egypt Soc. Parasitol., 28: pp.503-510.

Otani, H. and Kohmoto, K., 1992. Host specific toxins of *Alternaria* species. pp.123-156. In: *Alternaria* Biology Plant Diseases and Metabolism (Ed. Chelkowski, J. and Viscouli, A.) Elscvier, Amsterdam. 250.Netherland.

Riose, J.L., Recio, M.C. and Villar, A., 1987. Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. J. Ethnopharmacol., 21: pp.139 – 152.

Shier, W.T., Abbas, H.K. and Microcha, C.J., 1991. Toxicity of the mycotoxins fumonisins B_1 and B_2 and *Alternaria alternata* F. sp. Lycoperici toxin AAL in cultured mammalian cells. Mycopathologica. 116: pp.97-104.